

ARTÍCULO DE REVISIÓN

CD20, generalidades básicas-moleculares y su posible relación como marcador de mal pronóstico en leucemia

CD20, basic-molecular generalities, and its possible relationship as a marker of poor prognosis in leukemia

Andrea Natali Bastidas-Sánchez¹, Gabriele Davide Bigoni-Ordóñez^{1,2}

¹ Unidad Académica de Salud y Bienestar, Facultad de Bioquímica y Farmacia, Universidad Católica de Cuenca, Cuenca, Ecuador

² Facultad de Ciencias Médicas, Carrera de Laboratorio Clínico, Universidad de Cuenca, Cuenca, Ecuador

Fecha de sometimiento: 24/06/2022

Fecha de aceptación: 08/08/2022

Disponible en internet: 30/03/2023

Abstract

CD20 is a transmembrane protein expressed on the surface of the B lymphocyte and plays a significant role in its development and differentiation. It is expressed in most B-cell neoplasms, such as Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL). Information was collected on the biological and molecular structure of the CD20 marker and its regulation mechanism to improve the understanding of its function within the cell, the effect it exerts as a marker of poor prognosis when expressed in adult patients diagnosed with ALL, and the advantages of being used as a therapeutic target in this pathology.

Keywords: Antigenes, CD20; prognosis; precursor cell lymphoblastic leukemia-lymphoma; B-lymphocytes

Resumen

CD20 es una proteína transmembranal expresada en la superficie del linfocito B y desempeña un papel muy importante en su desarrollo y diferenciación. Se expresa en la gran mayoría de neoplasias de células B, como en la leucemia linfoblástica aguda (LLA). Se recopiló información sobre la estructura biológica y molecular del marcador CD20 y su mecanismo de regulación, para mejorar el entendimiento sobre su función dentro de la célula, el efecto que ejerce como marcador de mal pronóstico cuando se encuentra expresado en pacientes adultos diagnosticados con LLA y las ventajas de ser utilizado como blanco terapéutico en esta patología.

Palabras clave: antígenos CD20, pronóstico, leucemia-linfoma linfoblástico de células precursoras, linfocitos B

Introducción

CD20 es una proteína transmembranal expresada en la superficie de las células B a partir de linfocitos pre B y permanece hasta su diferenciación terminal a célula plasmática. Su función aún no se conoce en detalle, pero parece estar involucrada en la regulación del canal de calcio, actuando en los pasos iniciales de activación de las células B, conduciendo a la iniciación del ciclo celular y a su diferenciación por diferentes vías de señalización (1).

Citación:

Bastidas-Sánchez AN, Bigoni-Ordóñez GD. CD20, generalidades básicas-moleculares y su posible relación como marcador de mal pronóstico en leucemia. Rev Col Cancerol. 2023;27(1):150-8. <https://doi.org/10.35509/01239015.892>

Conflictos de interés:

No existen conflictos de interés por parte de los autores del presente estudio.

Correspondencia:

Gabriele Davide Bigoni Ordóñez

Unidad Académica de Salud y Bienestar, Facultad de Bioquímica y Farmacia, Universidad Católica de Cuenca, Cuenca, Ecuador

Facultad de Ciencias Médicas, Carrera de Laboratorio Clínico, Universidad de Cuenca, Cuenca, Ecuador

Correo electrónico: gabrieleb@hotmail.it

En las neoplasias malignas de células B, su nivel de expresión es extremadamente variable dependiendo de la neoplasia específica, pudiendo presentarse tanto en células terminalmente maduras como en células en proceso de maduración y ser expresado sólo parcial y débilmente por los linfoblastos leucémicos o puede ser completamente negativo (2).

La expresión del marcador CD20 en la Leucemia Linfoblástica Aguda de células B (LLA B), ha sido ampliamente descrita; sin embargo, su impacto pronóstico es aún controvertido, ya que estudios previos han proporcionado resultados heterogéneos. En población adulta, su presencia se ha asociado con un periodo de remisión de la enfermedad disminuido y reducción de la supervivencia global (3). Varios estudios han brindado interesantes resultados que podrían demostrar la importancia de este marcador en las estrategias inmunoterapéuticas (4). Su expresión, además de proveer información pronóstica, ha servido como blanco terapéutico para la terapia monoclonal dirigida tanto en linfomas como en leucemias (5).

La Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA) es una enfermedad hematológica heterogénea caracterizada por la transformación y proliferación clonal de células progenitoras linfoides en médula ósea, sangre periférica y sitios extramedulares (6). En población adulta, el 75% de los casos se desarrolla a partir de precursores de células de linaje B y presenta un pronóstico desfavorable debido a la existencia de factores de mayor riesgo en el momento del diagnóstico, además de comorbilidades asociadas (7). La tasa de curación en adultos es sólo del 20% al 40%; la mayoría experimentan una recaída dentro de 1 año posterior a su diagnóstico, a partir del cual la mediana de supervivencia es de sólo 4 a 8 meses (8).

La incidencia global de LLA es más alta en los países de Centro y Sur América, entre los que destacan Ecuador (2,8 y 3,3 por 100 000 habitantes para hombres y mujeres, respectivamente), Costa Rica (2,4 y 2,3 por 100 000) y Colombia (2,3 y 2,1 por 100 000) con una mayor probabilidad de muerte en comparación con población blanca y asiática (9,10).

En Colombia, la leucemia ocupa el décimo lugar dentro de los diferentes tipos de neoplasias independientemente de la edad y el sexo, con una incidencia de 5,5 casos por 100 000 habitantes (11). En particular, la LLA constituye un problema

de salud pública ya que su incidencia y mortalidad aumentan anualmente (12). En población adulta, entre 2019 y 2020, se informaron 171 nuevos casos y 183 muertes. La prevalencia pasó de 3,46 casos en el 2019 a 3,80 casos por 100 000 habitantes en el 2020, lo que indica un aumento del 10% (13).

La LLA B se caracteriza por la expresión de una variedad de antígenos específicos de células B, como PAX-5 (proteína activadora específica de células B), CD79a (citoplasmático), CD19, CD20, CD22, CD10, entre otros (14).

Metodología

La presente investigación recopiló información sobre el componente básico y molecular de la proteína CD20 y su posible papel pronóstico en pacientes adultos diagnosticados con LLA B. Se incluyeron estudios científicos en español e inglés que hablan sobre el marcador CD20 y su relación con la LLA B en adultos. La fecha de publicación de los artículos comprendió el periodo desde 1970 hasta 2021. La selección de los estudios se definió con base en los siguientes parámetros: para abordar aspectos generales y moleculares del marcador CD20 se seleccionaron artículos relevantes sobre este tema con claridad en la presentación y redacción; para la relación del marcador CD20 y su impacto pronóstico en la LLA, se seleccionaron estudios clínicos retrospectivos y prospectivos que muestren indicadores de resultados de riesgo, remisión, supervivencia y mortalidad; una clara descripción de la población objeto de estudio, muestra y período de realización de la investigación, así como recolección, clasificación y manejo adecuado de los datos obtenidos.

CD20: características biológicas y moleculares

El CD20 es un marcador de células B que se describió por primera vez en el año 1980, encontrándose en más del 95% de los linfocitos B de la sangre y órganos linfoides (15). Posteriores investigaciones permitieron caracterizar esta molécula como una fosfoproteína de superficie celular denominada B1 de 35 kDa, fosforilada predominantemente en residuos de serina y treonina, que presenta 3 isoformas (33, 35 y 37 kDa) y 3 principales regiones hidrofóbicas de 53, 25 y 20 aminoácidos. Se expresa en todas las etapas de la

ontogénesis de las células B excepto en las células pro B y células plasmáticas (16-18).

El CD20 pertenece a la familia de proteínas transmembrana de 4 dominios, subfamilia A (MS4A) constituidas por 2 bucles extracelulares, un bucle intracelular corto y los dominios citoplasmáticos N-terminal y C-terminal (Figura 1) cuya estructura funciona como un transportador de membrana o canal iónico que regula importantes procesos celulares (15,19).

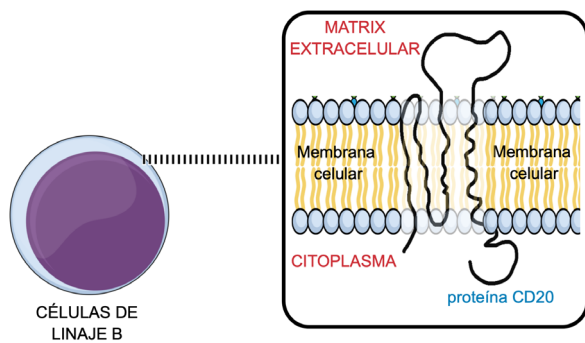


Figura 1. Estructura de la molécula de CD20. CD20 atraviesa la membrana celular del linfocito B cuatro veces, conformando dos regiones extracelulares en forma de un lazo grande y uno pequeño; en el espacio intracelular existen dominios ricos en serina, treonina y posee un grupo NH₂ y COOH terminal.

La familia MS4A y los genes que la codifican fueron aislados e identificados por primera vez gracias a la observación del marcador de células B CD20 (MS4A1) y la subunidad B del receptor de Inmunoglobulina E de alta afinidad (MS4A2 o FcεR1B), que comparten secuencias de aminoácidos. Esta familia de proteínas contiene algunos miembros que se expresan en la superficie celular de subconjuntos de leucocitos específicos y poseen funciones claves en la regulación de la activación, el crecimiento y el desarrollo celular (20-22).

El gen MS4A1 que codifica la molécula de superficie celular CD20 fue clonado por completo en 1988, consta de 8 exones y tiene una longitud de 16 kpb, se encuentra en el cromosoma 11 en la posición q12-q13. Esta localización coloca al gen CD20 cerca del sitio de la traslocación t(11;14)(q13;q32), característica de un subgrupo de neoplasias malignas de células B. El sitio de esta traslocación ha sido denominado bcl1 (linfoma de células B 1) y está separado del gen CD20 por al menos 50 kb de ADN, lo que explicaría que alteraciones en la

expresión de este gen estén relacionadas con la traslocación (23-25).

Transcripción y regulación del gen que codifica la proteína CD20

Se han identificado múltiples sitios de inicio de la transcripción y la región traducida de este gen está ubicada entre el tercer y octavo exón, dando como resultado una secuencia de 894 pb distribuida en seis exones. El principal sitio de inicio de la transcripción se ubica en el primer exón mientras que el codón de inicio de la traducción se ubica en el tercer exón. Existe un mecanismo de “splicing” alternativo que da como resultado la traducción de tres ARNm que codifican la misma proteína CD20 en los linfocitos B humanos. La variante mayoritaria tiene 2,8 kb de largo y usa los ocho exones, la segunda forma más común tiene 263 pb menos y utiliza los exones I y III. La variante menos común de 3,5 kb resulta del corte y empalme de un exón no caracterizado aguas arriba y un sitio ubicado en el exón I. El exón VIII codifica el extremo COOH de la proteína CD20 (Figura 2) (18,20,24).

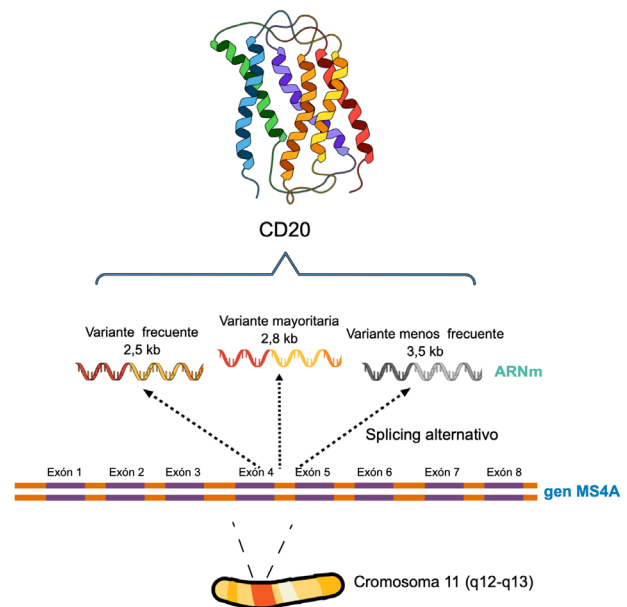


Figura 2. Gen MS4A1. El gen CD20, denominado MS4A1, se localiza en el cromosoma 11, comprende ocho exones y varios sitios de iniciación de la transcripción que generan ARNm de diferentes longitudes: 2,8 Kb, 2,5 Kb, 3,5 Kb que se traducen en una misma proteína de CD20.

La regulación transcripcional del gen MS4A1 carece de varios elementos reguladores típicos de otros genes específicos de células B, incluyendo la caja TATA y CAAT (26). Una regulación en *cis* fue definida inicialmente junto a la identificación de la caja BAT que contiene un sitio de unión para los factores de transcripción Oct-1 y Oct-2 (27,28). Otros elementos reguladores positivos constituyen la caja E que se une a los factores de transcripción USF (factor estimulador aguas arriba) y TFE3 (factor de transcripción E3), y el sitio de unión “PU.1/ PiP” para factores de transcripción pertenecientes a la familia ETS (Específica de Transformación de Eritroblastos) y la proteína PiP. Estos son regulados a la baja durante la diferenciación a células plasmáticas, y mutaciones en este sitio de unión disminuyen casi completamente la actividad promotora de MS4A1 (29).

Otros factores que regulan la expresión de CD20 han sido identificados; alrededor de 37 represores y 51 activadores juegan un papel importante en la regulación de la transcripción génica (30) e interesantemente, varios estudios sugieren que CD20 está al menos parcialmente regulado por mecanismos epigenéticos (31,32).

Expresión y función de la proteína CD20 en la hematopoyesis

CD20 es una molécula que se expresa en diferentes etapas durante el desarrollo de los linfocitos B a partir de linfocitos pre B tardíos y su expresión se pierde en plasmablastos y células plasmáticas. Existe un subconjunto de células T CD20 positivo, con actividad inmunorreguladora y proinflamatoria; sin embargo, su relevancia clínica aún no ha sido determinada (33,34).

CD20 contiene numerosos sitios potenciales de fosforilación y juega un papel central en la regulación del proceso de activación requerido para la progresión y diferenciación del ciclo celular en los linfocitos B (35,36).

CD20 cumple una función como canal de calcio. La activación completa de las células B requiere una elevación sostenida de calcio libre citoplasmático, a través de una combinación de su liberación de reservas intracelulares y la entrada de calcio extracelular a través de canales de membrana.

Estos canales no se abren directamente, sino que dependen de una liberación previa de calcio de las reservas intracelulares de las células. El agotamiento de estas reservas activa los canales de calcio operados por almacenamiento (SOC) en la membrana plasmática, facilitando la entrada de calcio extracelular y la posterior reposición de las reservas intracelulares (37-39).

Además, CD20 se asocia en la superficie celular y en el citoplasma con otras proteínas que contribuyen a la transducción de señales formando complejos supramoleculares, y se encuentra físicamente acoplado a la molécula del Complejo Mayor de Histocompatibilidad clase II (MHCII), a CD40, y al Receptor de Células B [BCR] (40-42). Estudios funcionales sugieren que CD20 es fisiológicamente necesario para la señalización eficiente de BCR en las células B, promoviendo la entrada de calcio requerida para el desarrollo, diferenciación y activación de linfocitos B (41,43,44).

CD20 también puede jugar un papel en la organización del citoesqueleto de actina y en procesos biológicos dependientes de ésta, como la migración y la adhesión; por lo tanto, puede regular la recirculación de células B en sangre periférica, en el bazo, la médula ósea y los ganglios linfáticos además de su interacción con células del estroma (45).

CD20 tiene la capacidad de redistribuirse en microdominios de membrana ricos en colesterol y esfingolípidos conocidos como balsas lipídicas y que funcionan como plataformas de transducción de señales y participan en la adhesión celular y la señalización transmembrana (46,47).

Expresión de CD20 en neoplasias no hematopoyéticas

Se ha descrito una expresión aberrante de CD20 en una pequeña serie de carcinomas papilares de tiroides; sin embargo, estos hallazgos pueden deberse a que la expresión de CD20 en la glándula tiroides normal o patológica es determinada en gran medida por la infiltración linfocítica, que puede variar de mínima a intensa, dependiendo de varias condiciones (48).

De igual manera, se ha descrito la expresión de CD20 en un grupo de células de melanoma metastásico cuyo significado clínico se desconoce aún (49,50).

Expresión de CD20 en neoplasias hematopoyéticas

Existen mutaciones en células B malignas que codifican formas truncadas de la proteína CD20 y tienen un papel clave en el establecimiento, progresión y respuesta del tumor al tratamiento. El empalme alternativo podría ser modificado por la infección del virus de Epstein-Barr, influyendo en una posible inmortalización de las células B (51,52). En las neoplasias malignas de células B, el nivel de expresión de CD20 es extremadamente variable dependiendo del tipo de neoplasia y su diferenciación. En neoplasias de células maduras, se ha descrito una baja expresión en células de leucemia linfocítica crónica y alta expresión en células de linfoma difuso de células grandes y en leucemia de células pilosas; interesantemente, se ha observado expresión de CD20 también en células de mieloma múltiple. De esta manera, los estudios han demostrado que los niveles de CD20 son ampliamente heterogéneos, no solo entre las diferentes clases de neoplasias sino también dentro de subpoblaciones de células intraclonales en un paciente individual (2,53).

Varias investigaciones demuestran la expresión de CD20 en linfoma de Hodgkin, asociada a características en la presentación de la enfermedad aunque su implicación pronóstica es aún controvertida (54,55), mientras que en linfomas de células T maduras, varios casos expresaron CD20; sin embargo, la naturaleza de la expresión debe ser aún determinada en este grupo de neoplasias así como su función en células T normales (56-59).

Cabe recordar que, en neoplasias de células inmaduras, el inmunofenotipo desempeña un papel crucial en el diagnóstico y subclasificación de la enfermedad, además de proporcionar información pronóstica relevante. En estos casos, la expresión de CD20 varía de un 30% a un 50% en la LLA B (60), existiendo una asociación entre el nivel de expresión de CD20 y el grado de maduración de la célula B (61).

CD20 como factor pronóstico en LLA B

La importancia pronóstica de la expresión de antígenos de superficie dentro de un subgrupo definido de leucemias, evidencia una asociación cercana entre la expresión de estos marcadores

y otras medidas biológicas de expresión de la enfermedad. La expresión de CD20 en LLA B ha sido estudiada previamente en busca de una relación con el pronóstico de la enfermedad; sin embargo, se han obtenido resultados discrepantes que podrían deberse a las diferencias en el diseño del estudio y a las distintas estrategias terapéuticas utilizadas (62).

La expresión de CD20 ha sido asociada a una mayor incidencia de recaída a los 42 meses y disminución de la sobrevida libre de eventos en pacientes adultos con cromosoma Philadelphia negativo, con un recuento de glóbulos blancos mayor a 30 000/ul que recibieron un régimen de quimioterapia adaptada de acuerdo con la clasificación de riesgo de la enfermedad (63,64). La expresión de CD20 también está relacionada con un bajo recuento de plaquetas, tasas más altas de enfermedad extramedular, hepatoesplenomegalia, linfadenopatía e infiltración al sistema nervioso central (65).

De igual manera, existe una clara asociación entre la expresión de CD20 y una mayor incidencia de recurrencia de enfermedad sistémica y menor supervivencia global en pacientes jóvenes menores de 30 años diagnosticados con LLA B que no recibieron tratamiento con Rituximab [anti CD20] (3,66-68).

En contraste con estos hallazgos, la expresión de CD20 parece ser más común en pacientes mexicanos en comparación con pacientes caucásicos y carece de valor pronóstico, no encontrándose correlación entre la expresión de CD20, la edad, recuento de glóbulos blancos o anomalías citogenéticas; aunque los pacientes positivos para CD20 tenían una tendencia hacia un peor resultado, no hubo una diferencia estadísticamente significativa en la supervivencia global entre pacientes con y sin expresión de CD20 (69-71).

Inmunoterapia celular y modulación de la expresión de CD20

En Colombia, la Guía Clínica para el tratamiento de LLA en pacientes de 18 a 21 años recomienda el uso de protocolos de quimioterapia diseñados para población pediátrica. En pacientes adultos menores de 60 años se sugieren esquemas intensivos como Hyper-CVAD (ciclofosfamida fraccionada más vincristina, doxorubicina, dexametasona) (72), que ha sido utilizado en diferentes países desarrollados

con buenos resultados (73-75). Sin embargo, en un estudio publicado en población colombiana, este esquema proporcionó resultados desalentadores con una sobrevida global mediana de menos de 11,3 meses, sobrevida libre de eventos de 7,34 meses y 61% de remisión completa (76). De igual manera, otros estudios latinoamericanos también informan una peor supervivencia al utilizar el mismo esquema quimioterapéutico (77,78), lo que evidencia que la respuesta a estos tratamientos se ve influenciada por múltiples factores, entre ellos el tipo de población.

Un importante objetivo en el tratamiento del cáncer, durante muchos años, ha sido el desarrollo de agentes específicos contra la célula tumoral sin afectar al huésped. La inmunoterapia celular ha logrado conseguir ese objetivo mediante el uso de anticuerpos monoclonales que se unen a blancos específicos en los receptores de las células malignas. En 1997, la Administración de Drogas y Alimentos de Estados Unidos (*Food and Drug Administration, FDA*), aprobó el primer anticuerpo monoclonal anti CD20, denominado Rituximab, para su uso clínico en el tratamiento de pacientes con linfoma no Hodgkin de células B de bajo grado en etapa avanzada o en recaída, que no son curables con enfoques convencionales (79).

La función del Rituximab es inducir apoptosis, citotoxicidad mediada por células dependientes de anticuerpos y muerte celular mediada por el complemento. La adición de este fármaco a regímenes terapéuticos basados en hiper-CVAD en pacientes con LLA BCD20 positivo y Philadelphia negativo, mejora significativamente las tasas de duración de la remisión completa a 3 años y sobrevida global, demostrando además una disminución de los costos generados en el tratamiento (80-82).

Sin embargo, se debe considerar que varios mecanismos de modulación en la expresión de CD20 han sido descritos como mutaciones en el gen CD20 que causan la pérdida de la expresión de la proteína después del uso de Rituximab, además de otros factores como la internalización de la proteína CD20, interferencia con la accesibilidad de Rituximab al CD20 por factores inhibidores, metabolismo rápido del anticuerpo, entre otros, que pueden causar resistencia a este medicamento y originar la formación de clones leucémicos persistentes (83,84).

Conclusión

La molécula CD20 está presente en células linfoides de tipo B tanto normales como malignas, con un nivel de expresión que varía dependiendo del estadio madurativo de la célula. Su función y regulación aún continúan siendo motivo de estudio para conocer por completo el rol biológico que desempeña dentro de la célula y de esta manera entender su papel como factor pronóstico en LLA B en adultos, en donde queda mucho por investigar aunque existe importante evidencia que asocia su presencia con mala respuesta al tratamiento y una enfermedad más agresiva, convirtiéndose en un blanco terapéutico importante que debe ser considerado en la terapia oncológica en este tipo de patología.

Referencias

1. Middleton O, Wheadon H, Michie AM. Molecular aspects of Innate Immunity. Classical Complement Pathway. En: Ratcliffe MJH, editor. *Encyclopedia of Immunobiology*. Oxford: Academic Press; 2016. p. 321-3. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374279-7.02014-2>
2. Prevodnik VK, Lavrenčak J, Horvat M, Novakovič BJ. The predictive significance of CD20 expression in B-cell lymphomas. *Diagn Pathol*. 2011;6:33. <https://doi.org/10.1186/1746-1596-6-33>
3. Esteban RE, Christianne B, Alvaro A, Demichelis-Gómez R. Prognostic Effect of CD20 Expression in Adult B-cell Acute Lymphoblastic Leukemia. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 2018;18(5):361-7. <https://doi.org/10.1016/j.clml.2018.02.013>
4. Levato L, Molica S. Rituximab in the management of acute lymphoblastic leukemia. *Expert Opin Biol Ther*. 2018;18(2):221-6. <https://doi.org/10.1080/14712598.2018.1425389>
5. Safdari Y, Ahmadzadeh V, Farajnia S. CD20-targeting in B-cell malignancies: novel prospects for antibodies and combination therapies. *Invest New Drugs*. 2016;34(4):497-512. <https://doi.org/10.1007/s10637-016-0349-4>
6. Terwilliger T, Abdul-Hay M. Acute lymphoblastic leukemia: a comprehensive review and 2017 update. *Blood Cancer J*. 2017;7(6):e577. <https://doi.org/10.1038/bcj.2017.53>
7. Paul S, Kantarjian H, Jabbour EJ. Adult Acute Lymphoblastic Leukemia. *Mayo Clin Proc*. 2016;91(11):1645-66. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2016.09.010>
8. Katz AJ, Chia VM, Schoonen WM, Kelsh MA. Acute lymphoblastic leukemia: an assessment of international incidence, survival, and disease burden. *Cancer Causes Control CCC*. 2015;26(11):1627-42. <https://doi.org/10.1007/s10552-015-0657-6>
9. Miranda-Filho A, Piñeros M, Ferlay J, Soerjomataram I, Monnereau A, Bray F. Epidemiological patterns of leukaemia in 184 countries: a population-based study. *Lancet Haematol*. 2018;5(1):e14-24. [https://doi.org/10.1016/S2352-3026\(17\)30232-6](https://doi.org/10.1016/S2352-3026(17)30232-6)
10. Kirtane K, Lee SJ. Racial and ethnic disparities in hematologic malignancies. *Blood*. 2017;130(15):1699-705. <https://doi.org/10.1182/blood-2017-04-778225>

11. Globocan 2020. Global Cancer Observatory. Disponible en: <https://gco.iarc.fr/>
12. Curado MP, Pontes T, Guerra-Yi ME, Cancela M de C. Leukemia mortality trends among children, adolescents, and young adults in Latin America. *Rev Panam Salud Publica Pan Am J Public Health*. febrero de 2011;29(2):96-102. Disponible en: <http://www.scielosp.org/scielo.php?script=sciarttext&pid=S1020-49892011000200004>
13. Leucemias en Colombia, ¿cuál es el panorama de la enfermedad en la población adulta? Cuenta de Alto Costo. 2021. Disponible en: <https://cuentadealtocosto.org/site/cancer/leucemias-en-colombia-cual-es-el-panorama-de-la-enfermedad-en-la-poblacion-adulta/>
14. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Fourth edition. Vol. 2. Lyon, France: IARC; 2017. p. 200-2.
15. Stashenko P, Nadler LM, Hardy R, Schlossman SF. Characterization of a human B lymphocyte-specific antigen. *J Immunol Baltim Md* 1950. 1980;125(4):1678-85. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.125.4.1678>
16. Oettgen HC, Bayard PJ, Van Ewijk W, Nadler LM, Terhorst CP. Further biochemical studies of the human B-cell differentiation antigens B1 and B2. *Hybridoma*. 1983;2(1):17-28. <https://doi.org/10.1089/hyb.1983.2.17>
17. Tedder TF, McIntyre G, Schlossman SF. Heterogeneity in the B1 (CD20) cell surface molecule expressed by human B-lymphocytes. *Mol Immunol*. 1988;25(12):1321-30. [https://doi.org/10.1016/0161-5890\(88\)90047-8](https://doi.org/10.1016/0161-5890(88)90047-8)
18. Einfeld DA, Brown JP, Valentine MA, Clark EA, Ledbetter JA. Molecular cloning of the human B cell CD20 receptor predicts a hydrophobic protein with multiple transmembrane domains. *EMBO J*. 1988;7(3):711-7. <https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1988.tb02867.x>
19. Polyak MJ, Taylor SH, Deans JP. Identification of a cytoplasmic region of CD20 required for its redistribution to a detergent-insoluble membrane compartment. *J Immunol Baltim Md* 1950. 1998;161(7):3242-8. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.161.7.3242>
20. Tedder TF, Streuli M, Schlossman SF, Saito H. Isolation and structure of a cDNA encoding the B1 (CD20) cell-surface antigen of human B lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1988;85(1):208-12. <https://doi.org/10.1073/pnas.85.1.208>
21. Hupp K, Siwarski D, Mock BA, Kinet JP. Gene mapping of the three subunits of the high affinity FcR for IgE to mouse chromosomes 1 and 19. *J Immunol Baltim Md* 1950. 1989;143(11):3787-91. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.143.11.3787>
22. Adra CN, Lelias JM, Kobayashi H, Kaghad M, Morrison P, Rowley JD, *et al*. Cloning of the cDNA for a hematopoietic cell-specific protein related to CD20 and the beta subunit of the high-affinity IgE receptor: evidence for a family of proteins with four membrane-spanning regions. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1994;91(21):10178-82. <https://doi.org/10.1073/pnas.91.21.1017>
23. Tedder TF, Klejman G, Disteché CM, Adler DA, Schlossman SF, Saito H. Cloning of a complementary DNA encoding a new mouse B lymphocyte differentiation antigen, homologous to the human B1 (CD20) antigen, and localization of the gene to chromosome 19. *J Immunol Baltim Md* 1950. 1988;141(12):4388-94. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.141.12.4388>
24. Tedder TF, Klejman G, Schlossman SF, Saito H. Structure of the gene encoding the human B lymphocyte differentiation antigen CD20 (B1). *J Immunol Baltim Md* 1950. 1989;142(7):2560-8. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.142.7.2560>
25. Stamenkovic I, Seed B. Analysis of two cDNA clones encoding the B lymphocyte antigen CD20 (B1, Bp35), a type III integral membrane protein. *J Exp Med*. 1988;167(6):1975-80. <https://doi.org/10.1084/jem.167.6.1975>
26. Thévenin C, Lucas BP, Kozlow EJ, Kehrl JH. Cell type- and stage-specific expression of the CD20/B1 antigen correlates with the activity of a diverged octamer DNA motif present in its promoter. *J Biol Chem*. 1993;268(8):5949-56. Available from: [https://www.jbc.org/article/S0021-9258\(18\)53411-6/pdf](https://www.jbc.org/article/S0021-9258(18)53411-6/pdf)
27. Rieckmann P, Wilson GL, Thevenin C, Hong JX, Kehrl JH. Analysis of cis-acting elements present in the CD20/B1 antigen promoter. *J Immunol*. 1991;147(11):3994-9. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.147.11.3994>
28. Thevenin C, Rieckmann P, Kozlow EJ, Kehrl JH. Identification of a diverged octamer binding site important in the B cell-specific expression of the CD20 gene. *Trans Assoc Am Physicians*. 1992;105:15-24. PMID: 1285015
29. Himmelmann A, Riva A, Wilson GL, Lucas BP, Thevenin C, Kehrl JH. PU.1/Pip and basic helix loop helix zipper transcription factors interact with binding sites in the CD20 Promoter to help confer lineage- and stage-specific expression of CD20 in B lymphocytes. *blood*. 1997;90(10):3984-95. <https://doi.org/10.1182/blood.V90.10.3984>
30. Stabicki M, Lee KS, Jethwa A, Sellner L, Sacco F, Walther T, *et al*. Dissection of CD20 regulation in lymphoma using RNAi. *Leukemia*. 2016;30(12):2409-12. <https://doi.org/10.1038/leu.2016.230>
31. Tomita A, Hiraga J, Kiyoi H, Ninomiya M, Sugimoto T, Ito M, *et al*. Epigenetic regulation of CD20 protein expression in a novel B-cell lymphoma cell line, RRBL1, established from a patient treated repeatedly with rituximab-containing chemotherapy. *Int J Hematol*. 2007;86(1):49-57. <https://doi.org/10.1532/IJH97.07028>
32. Hiraga J, Tomita A, Sugimoto T, Shimada K, Ito M, Nakamura S, *et al*. Down-regulation of CD20 expression in B-cell lymphoma cells after treatment with rituximab-containing combination chemotherapies: its prevalence and clinical significance. *Blood*. 2009;113(20):4885-93. <https://doi.org/10.1182/blood-2008-08-175208>
33. Algino KM, Thomason RW, King DE, Montiel MM, Craig FE. CD20 (pan-B cell antigen) expression on bone marrow-derived T cells. *Am J Clin Pathol*. 1996;106(1):78-81. <https://doi.org/10.1093/ajcp/106.1.78>
34. Schuh E, Berer K, Mulazzani M, Feil K, Meinel I, Lahm H, *et al*. Features of Human CD3+CD20+ T Cells. *J Immunol*. 2016;197(4):1111-7. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1600089>
35. Tedder TF, Schlossman SF. Phosphorylation of the B1 (CD20) molecule by normal and malignant human B lymphocytes. *J Biol Chem*. 1988;263(20):10009-15. Available from: [https://www.jbc.org/article/S0021-9258\(19\)81618-6/pdf](https://www.jbc.org/article/S0021-9258(19)81618-6/pdf)
36. Tedder TF, Engel P. CD20: a regulator of cell-cycle progression of B lymphocytes. *Immunol Today*. 1994;15(9):450-4. [https://doi.org/10.1016/0167-5699\(94\)90276-3](https://doi.org/10.1016/0167-5699(94)90276-3)
37. Li H, Ayer LM, Lytton J, Deans JP. Store-operated cation entry mediated by CD20 in membrane rafts. *J Biol Chem*. 2003;278(43):42427-34. <https://doi.org/10.1074/jbc.M308802200>
38. Parekh AB. Store-operated Ca²⁺ entry: dynamic interplay between endoplasmic reticulum, mitochondria and plasma membrane. *J Physiol*. 2003;547(Pt 2):333-48. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2002.034140>
39. Bubien JK, Zhou LJ, Bell PD, Frizzell RA, Tedder TF. Transfection of the CD20 cell surface molecule into ectopic cell types generates a Ca²⁺ conductance found constitutively in B lymphocytes. *J Cell Biol*. 1993;121(5):1121-32. <https://doi.org/10.1083/jcb.121.5.1121>
40. Szöllösi J, Horejsi V, Bene L, Angelisová P, Damjanovich S. Supramolecular complexes of MHC class I, MHC class II, CD20, and tetraspan molecules (CD53, CD81, and CD82) at the surface of a B cell line JY. *J Immunol*. 1996;157(7):2939-46. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.157.7.2939>

41. Polyak MJ, Li H, Shariat N, Deans JP. CD20 homo-oligomers physically associate with the B cell antigen receptor. Dissociation upon receptor engagement and recruitment of phosphoproteins and calmodulin-binding proteins. *J Biol Chem.* 2008;283(27):18545-52. <https://doi.org/10.1074/jbc.M800784200>
42. Tedder TF, Boyd AW, Freedman AS, Nadler LM, Schlossman SF. The B cell surface molecule B1 is functionally linked with B cell activation and differentiation. *J Immunol.* 1985;135(2):973-9. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.135.2.973>
43. Pavlasova G, Borsky M, Svobodova V, Oppelt J, Cerna K, Novotna J, et al. Rituximab primarily targets an intra-clonal BCR signaling proficient CLL subpopulation characterized by high CD20 levels. *Leukemia.* 2018;32(9):2028-31. <https://doi.org/10.1038/s41375-018-0211-0>
44. Petrie RJ, Deans JP. Colocalization of the B cell receptor and CD20 followed by activation-dependent dissociation in distinct lipid rafts. *J Immunol.* 2002;169(6):2886-91. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.169.6.2886>
45. Kozlova V, Ledererova A, Ladungova A, Peschelova H, Janovska P, Slusarczyk A, et al. CD20 is dispensable for B-cell receptor signaling but is required for proper actin polymerization, adhesion and migration of malignant B cells. *PLoS One.* 2020;15(3):e0229170. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0229170>
46. Li H, Ayer LM, Polyak MJ, Mutch CM, Petrie RJ, Gauthier L, et al. The CD20 calcium channel is localized to microvilli and constitutively associated with membrane rafts: antibody binding increases the affinity of the association through an epitope-dependent cross-linking-independent mechanism. *J Biol Chem.* 2004;279(19):19893-901. <https://doi.org/10.1074/jbc.M400525200>
47. Janas E, Priest R, Malhotra R. Functional role of lipid rafts in CD20 activity? *Biochem Soc Symp.* 2005;(72):165-75. <https://doi.org/10.1042/bss0720165>
48. Bychkov A, Jung CK. Aberrant expression of CD20 in thyroid cancer and its clinicopathologic significance. *Hum Pathol.* 2018;71:74-83. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2017.10.015>
49. Somasundaram R, Villanueva J, Herlyn M. Intratumoral heterogeneity as a therapy resistance mechanism: role of melanoma subpopulations. *Adv Pharmacol San Diego Calif.* 2012;65:335-59. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-397927-8.00011-7>
50. Pinc A, Somasundaram R, Wagner C, Hörmann M, Karanikas G, Jalili A, et al. Targeting CD20 in melanoma patients at high risk of disease recurrence. *Mol Ther J Am Soc Gene Ther.* 2012;20(5):1056-62. <https://doi.org/10.1038/mt.2012.27>
51. Henry C, Deschamps M, Röhrlich PS, Pallandre JR, Rémy-Martin JP, Callanan M, et al. Identification of an alternative CD20 transcript variant in B-cell malignancies coding for a novel protein associated to Rituximab resistance. *Blood.* 2010;115(12):2420-9. <https://doi.org/10.1182/blood-2009-06-229112>
52. Gamonet C, Bole-Richard E, Delherme A, Aubin F, Toussiroit E, Garnache-Ottou F, et al. New CD20 alternative splice variants: molecular identification and differential expression within hematological B cell malignancies. *Exp Hematol Oncol.* 2015;5:7. <https://doi.org/10.1186/s40164-016-0036-3>
53. Olejniczak SH, Stewart CC, Donohue K, Czuczman MS. A quantitative exploration of surface antigen expression in common B-cell malignancies using flow cytometry. *Immunol Invest.* 2006;35(1):93-114. <https://doi.org/10.1080/08820130500496878>
54. Rassidakis GZ, Medeiros LJ, Viviani S, Bonfante V, Nadali GP, Vassilakopoulos TP, et al. CD20 expression in Hodgkin and Reed-Sternberg cells of classical Hodgkin's disease: associations with presenting features and clinical outcome. *J Clin Oncol.* 2002;20(5):1278-87. <https://doi.org/10.1200/JCO.2002.20.5.1278>
55. Tzankov A, Krugmann J, Fend F, Fischhofer M, Greil R, Dirnhöfer S. Prognostic significance of CD20 expression in classical Hodgkin Lymphoma: A clinicopathological study of 119 cases. *Clin Cancer Res.* 2003;9(4):1381-6. Available from: <https://aacrjournals.org/clincancerres/article/9/4/1381/202356/Prognostic-Significance-of-CD20-Expression-in>
56. Quintanilla-Martinez L, Preffer F, Rubini D, Ferry JA, Harris NL. CD20+ T-cell lymphoma. Neoplastic transformation of a normal T-cell subset. *Am J Clin Pathol.* 1994;102(4):483-9. <https://doi.org/10.1093/ajcp/102.4.483>
57. Buckner CL, Christiansen LR, Bourgeois D, Lazarchick JJ, Lazarchick J. CD20 positive T-cell lymphoma/leukemia: a rare entity with potential diagnostic pitfalls. *Ann Clin Lab Sci.* 2007;37(3):263-7. Available from: <http://www.annclinlabsci.org/content/37/3/263.long>
58. Matnani RG, Stewart RL, Pulliam J, Jennings CD, Kesler M. Peripheral T-Cell Lymphoma with Aberrant Expression of CD19, CD20, and CD79a: Case Report and Literature Review. *Case Rep Hematol.* 2013;2013:e183134. <https://doi.org/10.1155/2013/183134>
59. Das DK. Nucleolar positivity for CD20: a diagnostic aid in neoplasms of T-cell lineage? *Acta Cytol.* 2005;49(4):365-72. <https://doi.org/10.1159/000326167>
60. Kumar J, Khan AA, Saraf A, Bhargava M. Expression of CD20 in B Cell Precursor Acute Lymphoblastic Leukemia. *Indian J Hematol Blood Transfus.* 2014;30(1):16-8. <https://doi.org/10.1007/s12288-012-0216-1>
61. Raponi S, De Propriis MS, Intoppa S, Milani ML, Vitale A, Elia L, et al. Flow cytometric study of potential target antigens (CD19, CD20, CD22, CD33) for antibody-based immunotherapy in acute lymphoblastic leukemia: analysis of 552 cases. *Leuk Lymphoma.* 2011;52(6):1098-107. <https://doi.org/10.3109/10428194.2011.559668>
62. Borowitz MJ, Shuster J, Carroll AJ, Nash M, Look AT, Camitta B, et al. Prognostic significance of fluorescence intensity of surface marker expression in childhood B-precursor acute lymphoblastic leukemia. A Pediatric Oncology Group Study. *Blood.* 1997;89(11):3960-6. <https://doi.org/10.1182/blood.V89.11.3960>
63. Maury S, Huguet F, Leguay T, Lacombe F, Maynadié M, Girard S, et al. Adverse prognostic significance of CD20 expression in adults with Philadelphia chromosome-negative B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica.* 2010;95(2):324-8. <https://doi.org/10.3324/haematol.2009.010306>
64. Isshiki Y, Ohwada C, Sakaida E, Onoda M, Aotsuka N, Tanaka H, et al. CD20 positivity and white blood cell count predict treatment outcomes in Philadelphia chromosome-negative acute lymphoblastic leukemia patients ineligible for pediatric-inspired chemotherapy. *Jpn J Clin Oncol.* 2017;47(11):1047-54. <https://doi.org/10.1093/jjco/hyx126>
65. Yang S, Wang J, Zhao T, Jia J, Zhu H, Jiang H, et al. CD20 expression sub-stratifies standard-risk patients with B cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Oncotarget.* 2017;8(62):105397-406. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.22207>
66. Thomas DA, O'Brien S, Jorgensen JL, Cortes J, Faderl S, Garcia-Manero G, et al. Prognostic significance of CD20 expression in adults with de novo precursor B-lineage acute lymphoblastic leukemia. *Blood.* 2009;113(25):6330-7. <https://doi.org/10.1182/blood-2008-04-151860>
67. Alvarado-Ibarra M, Trejo-Gómora J, López-Hernández M, Álvarez-Vera JL, Ortiz-Zepeda SM. Influencia pronóstica del CD20+ en la supervivencia libre de recaída y en los resultados terapéuticos de pacientes adultos con leucemia linfoblástica aguda de novo sometidos a quimioterapia intensiva. *Rev Hematol.* 2015;16(3):189-97. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/hematologia/re-2015/re153b.pdf>

68. Alduailej H, Kanfar S, Bakhit K, Raslan H, Alsaber A, Bashawri L, *et al.* Outcome of CD20-positive Adult B-cell Acute Lymphoblastic Leukemia and the Impact of Rituximab Therapy. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk.* 2020;20(9):e560-8. <https://doi.org/10.1016/j.clml.2020.04.008>
69. Solano-Genesta M, Tarín-Arzaga L, Velasco-Ruiz I, Lutz-Presno JA, González-Llano O, Mancias-Guerra C, *et al.* CD20 expression in B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia is common in Mexican patients and lacks a prognostic value. *Hematol Amst Neth.* 2012;17(2):66-70. <https://doi.org/10.1179/102453312X13221316477741>
70. Mannelli F, Gianfaldoni G, Intermesoli T, Cattaneo C, Borlenghi E, Cortelazzo S, *et al.* CD20 expression has no prognostic role in Philadelphia-negative B-precursor acute lymphoblastic leukemia: new insights from the molecular study of minimal residual disease. *Haematologica.* 2012;97(4):568-71. <https://doi.org/10.3324/haematol.2011.054064>
71. Bachanova V, Sandhu K, Yohe S, Cao Q, Burke MJ, Verneris MR, *et al.* Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation overcomes the adverse prognostic impact of CD20 expression in acute lymphoblastic leukemia. *Blood.* 2011;117(19):5261-3. <https://doi.org/10.1182/blood-2011-01-329573>
72. Colombia. Ministerio de salud y Protección Social. Guía de práctica clínica para la detección, tratamiento y seguimiento de leucemias linfoblástica y mieloide en población mayor de 18 años. Guía No. 34. Bogotá, D.C: Ministerio de Salud y Protección Social; 2017. 193 p. Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/DE/CA/gpc-profesionales-leucemias-linfoblastica-mieloide-mayores-18-anos.pdf>
73. Kantarjian H, Thomas D, O'Brien S, Cortes J, Giles F, Jeha S, *et al.* Long-term follow-up results of hyperfractionated cyclophosphamide, vincristine, doxorubicin, and dexamethasone (Hyper-CVAD), a dose-intensive regimen, in adult acute lymphocytic leukemia. *Cancer.* 2004;101(12):2788-801. <https://doi.org/10.1002/cncr.20668>
74. Xu W, Li JY, Qian SX, Wu HX, Lu H, Chen LJ, *et al.* Outcome of treatment with Hyper-CVAD regimen in Chinese patients with acute lymphocytic leukemia. *Leuk Res.* 2008;32(6):930-5. <https://doi.org/10.1016/j.leukres.2007.10.019>
75. Morris K, Weston H, Mollie P, Marlton P, Gill D, Kennedy G. Outcome of treatment of adult acute lymphoblastic leukemia with hyperfractionated cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, dexamethasone/methotrexate, cytarabine: results from an Australian population. *Leuk Lymphoma.* 2011;52(1):85-91. <https://doi.org/10.3109/10428194.2010.532889>
76. Combariza Juan Felipe, Casas Claudia Patricia, Rodríguez Neira Myriam Lucía, Cardona Zorrilla Andrés Felipe, Ospina León Edgar Guillermo, Grajales Marco. Supervivencia en adultos con leucemia linfocítica aguda de novo tratados con el esquema HyperCVAD en el Instituto Nacional de Cancerología (Colombia), entre enero de 2001 y junio de 2005. *Rev Colomb Cancerol.* 2007;11(2):92-100. Disponible en: <https://www.imbiomed.com.mx/articulo.php?id=49610>
77. Ramos-Peñafiel CO, Cabrera-García Á, Rozen-Fuller E, González-León G, Balderas C, Kassack-Ipiña JJ, *et al.* Comparación del Hyper-CVAD con un régimen institucional en el tratamiento de la leucemia linfoblástica aguda del adulto en un hospital de México. *Rev Peru Med Exp Salud Publica.* 2014;31(3):525-9. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342014000300018
78. Arteaga-Ortiz L, Buitrón-Santiago N, Rosas-López A, Rosas-Arzate G, Armengolt-Jiménez A, Aguayo A, *et al.* Experiencia del INCMNSZ en pacientes adultos con leucemia linfocítica aguda. Cohorte 2003-2007 con esquemas de tratamiento Hiper-CVAD y Protocolo 0195. *Rev Investig Clin.* 2008;60(6):459-69. Available from: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumenl.cgi?IDARTICULO=41257>
79. Maloney DG, Grillo-López AJ, White CA, Bodkin D, Schilder RJ, Neidhart JA, *et al.* IDEC-C2B8 (Rituximab) anti-CD20 monoclonal antibody therapy in patients with relapsed low-grade non-Hodgkin's lymphoma. *Blood.* 1997;90(6):2188-95. <https://doi.org/10.1182/blood.V90.6.2188>
80. Thomas DA, Faderl S, O'Brien S, Bueso-Ramos C, Cortes J, Garcia-Manero G, *et al.* Chemoimmunotherapy with hyper-CVAD plus Rituximab for the treatment of adult Burkitt and Burkitt-type lymphoma or acute lymphoblastic leukemia. *Cancer.* 2006;106(7):1569-80. <https://doi.org/10.1002/cncr.21776>
81. Thomas DA, O'Brien S, Faderl S, Garcia-Manero G, Ferrajoli A, Wierda W, *et al.* Chemoimmunotherapy with a modified hyper-CVAD and Rituximab regimen improves outcome in de novo Philadelphia chromosome-negative precursor B-lineage acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol.* 2010;28(24):3880-9. <https://doi.org/10.1200/JCO.2009.26.9456>
82. Nam J, Milenkovski R, Yunger S, Geirnaert M, Paulson K, Seftel M. Economic evaluation of Rituximab in addition to standard of care chemotherapy for adult patients with acute lymphoblastic leukemia. *J Med Econ.* 2018;21(1):47-59. <https://doi.org/10.1080/13696998.2017.1372230>
83. Sugimoto T, Tomita A, Hiraga J, Shimada K, Kiyoi H, Kinoshita T, *et al.* Escape mechanisms from antibody therapy to lymphoma cells: downregulation of CD20 mRNA by recruitment of the HDAC complex and not by DNA methylation. *Biochem Biophys Res Commun.* 2009;390(1):48-53. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2009.09.059>
84. Hato T, Yamanouchi J, Tamura T, Hojo N, Niiya Y, Kohno M, *et al.* Existence of leukemic clones resistant to both imatinib mesylate and Rituximab before drug therapies in a patient with Philadelphia chromosome-positive acute lymphocytic leukemia. *Int J Hematol.* 2004;80(1):62-6. https://doi.org/10.1532/IJH97_04033